جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

نشریه علوم دامی
شماره ۹۱، تابستان ۱۳۹۰
(پژوهش و سازندگی)

چند شکلي در جایگاه هاي ژني GH و GHR و ارتباط آنها با ارزش هاي فنوتیپي و اصلاحی صفات وزن بدن در مرغان بومي مازندران

• بابک عنایتی
کارشناس ارشد دانشگاه مازندران (نویسنده مسئول)
• قدرت ا... رحیمی میانجی
استاد دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری
• عبدالاحد شادپرور
دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان
تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۹
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۱۱۸۶۶۷۱۸
Email: bkenayati@gmail.com

چکیده

ژن GH به دلیل تاثیر عمده آن بر رشد و متابولیسم، یکی از مهمترین ژن های کاندید موثر بر عملکرد جوجه ها می باشد. به منظور بررسی چند شکلی ژن GH و GHR از ۱۶۰ قطعه از مرغان ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران به صورت تصادفی خون گیری بعمل آمد. استخراج DNA به کمک روش نمکی بهینه یافته و واکنش زنجیره ای پلی مراز جهت تکثیر یک قطعه ۱۰۵۰ جفت بازی از ژن GH و یک قطعه ۷۱۸ جفت بازی از ژن GHR انجام گرفت. قطعه تکثیر شده ژن GH به کمک آنزیم محدودگر SacI وجود دو آلل + و- و قطعه تکثیر شده ژن GHR به کمک آنزیم محدودگر HindIII وجود دو آلل A و B را آشکار نمود. فراوانی های آللی در جایگاه ژن GH برابر ۰/۷۹۸۱ (آلل+) و ۰/۲۰۱۹ (آلل -)، و برای جایگاه ژن GHR برابر ۰/۹۹۳۷ (آلل A) و ۰/۰۰۶۳ (آلل B) بود. ژنوتیپ های +/+ ، +/- و -/- برای ژن GH به ترتیب با فراوانی ۰/۶۱۵۳ ، ۰/۳۶۵۳ و ۰/۰۱۹۲ و دو ژنوتیپ AAو BB برای ژن GHR به ترتیب با فراوانی ۰/۹۹۳۷ و ۰/۰۰۶۳ در این گله تشخیص داده شدند. میزان هتروزیگوسیتی پایین مربوط به ژن GH در گله مورد مطالعه را می توان به بسته بودن یا اندازه موثر گله نسبت داد. تجزیه و تحلیل داده های فنوتیپی نشان داد که ژنوتیپ های ژن GH به صورت معنی داری ($P \leq ۰/۰۳$) روی صفت وزن بدن در سن دوازده هفتگی موثر است. مقایسه میانگین ها آشکار نمود، ژنوتیپ های +/+ دارای وزن دوازده هفتگی بالاتری نسبت به دیگر ژنوتیپ ها هستند. روابط بین کلیه ژنوتیپ های GHR و سایر ژنوتیپ های ژن GH با داده های فنوتیپی و ارزش های اصلاحی معنی دار نبود ($P> ۰/۰۵$).

کلمات کلیدی: GHR ، GH ، چند شکلی، ارزش های اصلاحی، مرغ بومی مازندران

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 91 pp:20-26

Polymorphism in GH and GHR loci and its association with phenotypic and breeding values of body weight traits in breeder hens of Mazandarn native fowls breeding station

By: Babak Enayati, Department of Animal Sciences, College of Animal and Aquatic Sciences, Mazandaran University (Corresponding Author; Tel: +989111866718) Godrat Rahimi Mianji, Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences an Fishery, Sari Agricultural Sciences Resources University, Sari, Abdolahad Shadparvar, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Guilan University, Rasht.

The chicken growth hormone gene is considered as one of the most important candidate genes that can influence chicken performance traits because of its crucial function in growth and metabolism. In order to detect polymorphism in GH and GHR loci 160 blood samples were collected randomly from breeder hens of Mazandaran native fowls breeding station. DNA was extracted using modified salting out procedures and polymerase chain reaction (PCR) were used for amplification of fragments with the length of 1050 bp at GH and 718 bp at GHR loci. The treatment of fragments at GH and GHR loci with SacI and HindIII restriction enzymes were revealed +, - and A and B alleles, respectively. The frequencies of alleles at GH locus were + (0.7981), - (0.2019) and for GHR were A (0.9937) and B (0.0063). The genotype frequencies were +/+ (0.6153), +/- (0.3653) and -/- (0.0192) for GH locus and AA (0.9937) and BB (0.0063) for GHR locus. Low heterozigosity of GH gene could be due to closed and small effective number size of flock. Phenotypic analysis showed that GH genotypes were significantly affected body weight (BW) at 12 weeks of age ($P \leq 0.03$). Comparison of means indicated that +/+ genotypes had higher BW at 12 weeks than the other genotypes. The relationships between GHR and other GH genotypes with phenotypic data or breeding values traits were not significant ($P > 0.05$).

Keywords: Growth hormone, Growth hormone receptor, Polymorphism, Breeding value and Mazadaran native hen

مقدمه

در سال های اخیر با وارد شدن روش های مولکولی از جمله استفاده از استراتژی ژن های اصلی و کاندید در تحقیقات اصلاح نژادی، به نظر می رسد که تغییرات بنیادی در علم اصلاح نژاد در حال وقوع است. البته در حال حاضر تعداد کمی از ژن ها ی عمده و موثر روی صفات کمی و تغییرات مورفولوژیکی آنها در طیور به تایید رسیده و بر روی ژنوم نقشه یابی شده است (۲ ، ۱۶). در این موارد پیوستگی بین فنوتیپ و ژنوتیپ، می تواند بخوبی نقش یک ژن را در عملکرد پیچیده یک صفت نشان دهد (۱۷). یکی از ژن های کاندید که مورد توجه زیادی قرار گرفته، ژن GH (هورمون رشد) است. این ژن نقشی حیاتی را در کنترل رشد و متابولیسم بازی می کند. همچنین همبستگی بالقوه ای بین چند شکلی های هورمون رشد و صفات اقتصادی وجود دارد، که در کارکردهای بیولوژیکی از سطح سلولی گرفته تا تغییرات فنوتیپی در ارگانیسم ها نقش های مختلفی را ایفا می نماید (۱۴). به نظر می رسد هورمون رشد از مهمترین هورمون های غده هیپوفیز است که متابولیسم کربوهیدرات را در پرندگان تحت تاثیر قرار می دهد. گزارش شده است که تزریق هورمون رشد مقدار گلوکز پلاسما را (در جوجه ها) تغییر نمی دهد، اما موجب کاهش گلوکاگن (در اردک ها) و بالا رفتن میزان انسولین (در اردک ها و غازها) می شود (۶). تحقیقات انجام شده نشان داده است که تزریق هورمون رشد در جوجه هایی که در محرومیت غذایی نبوده اند، مقدار گلیکوژن قلب را به سرعت (به میزان صد در صد در طی یک ساعت) افزایش داده در حالی که بر مقدار گلیکوژن کبد تاثیری نداشته است (۶). هورمون رشد پرندگان در قیاس با مقادیر مساوی از هورمون رشد پستانداران، حتی در غیاب گلوکورتیکوئیدهای پشتیبان، در تحریک واکنش لیپولیز و آزاد سازی گلیسرول در سلول های چربی پرندگان بسیار موثرتر بوده است (۷). ساختار ژن GH در طیور مشابه هورمون های رشد در دیگر گونه ها بخصوص هورمون رشد گاو می باشد که دارای یک توالی ۱۷۹۲جفت بازی با ۵ اگزون و ۴ اینترون در اندازه های۲۲۷،۲۳۱،۲۶۴ و۲۷۳ جفت باز می باشد (۳). عملکرد هورمون رشد در طیور به باند شدن آن با گیرنده و غلظت هورمون رشد بستگی دارد. پایان این فرایند (ترکیب هورمون - گیرنده) باعث کاهش در بیان ژن GHR (گیرنده هورمون رشد) می شود (۸). در جوجه های کوتوله موتاسیون هایی که در ژن GHR رخ می دهد از متصل شدن شدن هورمون رشد با جایگاه هدف در گیرنده آن جلوگیری می نماید (۸). در جوجه ها، کوتولگی وابسته به جنس (dwdw) ناشی از عدم حسایت به هورمون رشد و علت آن بروز یک جهش در ژن GHR گزارش شده است (۱).

چند شکلی ژن GH و گیرنده آن در یک سری از سویه های تخم گذار و جوجه های گوشتی و ارتباط آنها با صفت تولید تخم در مرغان تخم گذار و اندازه چربی شکمی در جوجه های گوشتی درمطالعات مختلف مورد بررسی قرارگرفته است (۵ ، ۱۴). رابطه بین چند ژن کاندید شامل گیرنده هورمون رشد، گیرنده آزاد کننده گنادوتروپین ها و نوروپپتید Y و صفات تولیدمثلی در یک شجره از لاین مادری اصلاح شده جوجه های گوشتی تجاری مورد بررسی قرار گرفت. صفات مورد نظر شامل تعداد کل تخم مرغ، تعداد

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تخم های دو زرده و سن در اولین تخم گذاری بوده است. نتایج این تحقیق یک رابطه غلبه از ژن نوروپپتید Y روی سن در اولین تخم گذاری و یک اثر افزایشی از ژن گیرنده آزاد کننده گنادوتروپین ها روی تعداد تخم های دو زرده را نشان داد (۴). بروز جهش و یا تغییر در ساختار DNA می تواند ضمن تغییر در عملکرد یک صفت، امکان تغییر در ارزش های اصلاحی آن صفات را نیز میسر سازد (۱۲).

شناسایی چند شکلی در اینترون ۴ از ژن GH که روی کروموزوم شماره یک قرار گرفته است، همین طور شناسایی چند شکلی بخشی از اینترون ۲ ژن GHR که این ژن نیز روی کروموزوم جنسی Z قرار دارد، از اهداف اصلی این تحقیق می باشد. سایر اهداف مورد نظر، یافتن ارتباط بین ژنوتیپ های حاصل از دو ژن GH و GHR با داده های فنوتیپی و ارزش های اصلاحی چهار صفت وزن یک روزگی (BW۱)، وزن هشت هفتگی (BW۸)، وزن دوازده هفتگی (BW۱۲) و وزن بدن در زمان بلوغ جنسی (BWM)، در جمعیت مرغان مولد ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران می باشد.

مواد و روش ها

نمونه برداری و انجام واکنش PCR

تعداد ۱۶۰ نمونه خون از مرغان ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران بطور تصادفی تهیه و استخراج DNA از ۵۰ میکرولیتر خون تام به روش نمکی بهینه یافته انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به ترتیب بوسیله روش های اسپکتروفتومتری و ژل الکتروفورز تعیین گردید. تکثیر قطعات مورد نظر در جایگاه های ژن GH و گیرنده آن به ترتیب در اندازه های ۱۰۵۰ جفت باز و ۷۱۸ جفت باز توسط آغازگرهای اختصاصی و با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) انجام گرفت (جدول ۱).

غلظت مواد مورد استفاده در PCR عبارت بودند از بافر X۱، ۰/۱ مولار Mgcl۲، ۰/۲ مولار dNTP، ۰/۵ میکرو مولار برای هرکدام از پرایمر های رفت و برگشت، ۵۰ نانوگرم DNA الگو، ۱ واحد آنزیم تک پلی مراز و سپس حجم محلول توسط آب دوبار تقطیر به ۲۵ میکرو لیتر رسانده شد. دما و زمان های استفاده شده در سیکل حرارتی برای هر یک از جایگاه ها در جدول ۲ نشان داده شد. پس از انجام واکنش PCR جهت کنترل محصول PCR، محصولات آن به کمک ژل آگارز ۰/۸ درصد به مدت ۲۵ دقیقه با ولتاژ ۸۵ الکتروفورز، سپس با اتدیوم بروماید رنگ آمیزی و به کمک اشعه ماوراء بنفش مشاهده گردید. برای مقایسه قطعات تکثیر شده و اندازه گیری طول قطعات از مارکر ۵۰ جفت بازی (SMO۳۷۱ کمپانی فرمنتاز) استفاده گردید.

جهت هضم آنزیمی محصولات حاصل از واکنش PCR از ۶ تا ۸ میکرولیتر محصول PCR، ۰/۷ میکرولیتر آنزیم محدودگر، ۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش آنزیمی (X۱۰) و ۸/۸ تا ۱۰/۸ میکرولیتر آب دیونیزه استفاده گردید. از آنزیم های محدودگر SacI و HindIII به ترتیب برای ژن GH و GHR استفاده شد. محصولات PCR بعد از هضم آنزیمی روی ژل آگارز ۲/۵ درصد با ولتاژ ۱۱۵ و زمان ۹۰ دقیقه الکتروفورز و به کمک رنگ آمیزی با اتدیوم بروماید رویت گردید. با شناسایی آلل ها، ژنوتیپ هر یک از نمونه ها تعیین و وفور ژنی و ژنوتیپی به کمک نرم افزار POPGEN نسخه ۱/۳۱ انجام گرفت (۱۸).

پیش بینی ارزش های اصلاحی

ارزش های اصلاحی حیوانات برای صفات BW۱، BW۸، BW۱۲ و BWM با استفاده از اطلاعات شجره ای مرغان بومی مرکز اصلاح نژاد

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده برای هر یک از جایگاه های ژنی

منابع	توالی (۳/ ---------- ۵/)	نام جایگاه
۵ و ۹	CTAAAGGACCTGGAAGAAGGG AACTTGTCGTAGGTGGGTCTG	GH
۵ و ۱۱	GGCTCTCCATGGGTATTAGGA GCTGGTGAACCAATCTCGGTT	GHR

جدول ۲- درجه حرارت به کار گرفته شده در واکنش PCR برای هر یک از جایگاه های GH و GHR

زمان (ثانیه)	دما (C°)	مراحل	ژن
۳۰	۹۲	واسرشته سازی	GH
۱۲۰	۶۲	اتصال	
۹۰	۷۲	بسط	
۳۰	۹۲	واسرشته سازی	GHR
۸۰	۵۹	اتصال	
۹۰	۷۲	بسط	

مرغ مازندران از سال ۱۳۷۵ به بعد بدست آمد. فایل داده ها دارای حدود ۴۰۰۰۰ رکورد، مربوط به ۹ نسل و ۴ هچ بود. پیش بینی ارزش های اصلاحی به صورت چند صفتی به کمک نرم افزار DFREML انجام گرفت(۱۳). مدل آماری شماره ۱ برای پیش بینی ارزش های اصلاحی صفات وزن در یک روزگی، وزن در هشت هفتگی و وزن در دوازده هفتگی مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به این نکته که سن بلوغ جنسی می تواند صفت وزن بدن در زمان بلوغ جنسی را تحت تاثیر قرار دهد برای محاسبه ارزش صفت یاد شده عامل سن بلوغ جنسی به عنوان یک اثر تصادفی برای پیش بینی ارزش اصلاحی صفت وزن بدن در زمان بلوغ جنسی در نظر گرفته شد.

$$\mathbf{y}_i = \mathbf{X}_i\mathbf{b}_i + \mathbf{Z}_{1i}\mathbf{a}_i + \mathbf{Z}_{2i}\mathbf{m}_i + \mathbf{e}_i \qquad \text{(مدل ۱)}$$

yi= بردار مشاهدات i امین صفت، bi= بردار اثر عوامل ثابت بر مشاهدات i امین صفت، ai= بردار ارزش اصلاحی، ei= بردار اثر باقیمانده موثر بر مشاهدات i امین صفت، Xi= ماتریس ضرایب مربوط به بردار ، Z۱i= ماتریس ضرایب مربوط به بردار ، Z۲i= ماتریس ضرایب مربوط به بردار m بوده و ۴،...، ۱=i به ترتیب، صفات وزن بدن در سن های یک روزگی ، هشت هفتگی، دوازده هفتگی و وزن بدن در زمان بلوغ جنسی می باشد. بردار b ۱ تا ۴ b حاوی اثرات ثابت گسسته سال - هچ و اثر جنس، و اثر ثابت پیوسته سن بلوغ جنسی و بردارهای a ۱ تا a ۴ حاوی اثرات تصادفی ژنتیکی (ارزش اصلاحی) صفات BW۱، BW۸ ، BW۱۲ و BWM و بردار m ۱ تا m ۴ حاوی بردار اثرات مادری صفات BW۱، BW۸ ، BW۱۲ و BWM می باشد.

تعیین اثر ژنوتیپ

جهت یافتن رابطه بین ژنوتیپ های حاصل با داده های فنوتیپی و ارزش های اصلاحی از مدل های شماره ۲، ۳ و ۴ به کمک رویه GLM نرم افزار SAS((V۹,۱ انجام شد(۱۵). مدل های شماره ۲ برای سه صفت وزن در یک روزگی، وزن در هشت هفتگی و وزن در دوازده هفتگی و مدل ۳ برای صفت وزن در زمان بلوغ جنسی استفاده شد

$$y_{ijkl} = \mu + g_i + h_j + s_k + \varepsilon_{ijkl} \qquad \text{(مدل ۲)}$$

yijkl = مقدار فنوتیپی صفت مورد بررسی، μ = میانگین کل،gi = اثر ژن hj، GH = اثر هچ،sk = اثر جنس و εijkl= اثر تصادفی باقی مانده.

$$y_{ijkl} = \mu + g_i + h_j + s_k + b(x_{ijk} - x_b) + \varepsilon_{ijkl} \qquad \text{(مدل ۳)}$$

yijkl = مقدار فنوتیپی صفت مورد بررسی، μ = میانگین کل، gi = اثر ژن hj ، GH = اثر هچ، sk = اثر جنس، εijkl= اثر تصادفی باقی مانده b= ضریب تابعیت سن بلوغ جنسی روی صفت وزن بدن در زمان بلوغ، xijk = سن بلوغ جنسی، xb = میانگین تصحیح شده صفت سن بلوغ جنسی.

برای یافتن رابطه بین ژنوتیپ های حاصل از ژن GH با ارزش های اصلاحی صفات مورد بررسی از مدل شماره ۴ استفاده شد.

$$e_i + g_i + \mu = y_i \qquad \text{(مدل ۴)}$$

yi = ارزش اصلاحی صفت مورد بررسی، μ = میانگین کل، gi = اثر ژن GH وei = اثر تصادفی باقی مانده.

به کمک آزمون حداقل مربعات، میانگین ها تصحیح شد و به کمک مقایسه میانگین ها اختلاف بین میانگین ها بررسی گردید.

نتایج و بحث

ژنوتیپ های حاصل از هضم آنزیمی در جایگاه GH توسط آنزیم SacI سه ژنوتیپ "+/+"، "+/-" و "-/-" که به ترتیب دارای قطعه ۱۰۵۰، سه قطعه ۱۰۵۰ و ۶۰۰ و ۴۵۰ و دو قطعه ۶۰۰ و ۴۵۰ جفت بازی و جایگاه GHR بعد از هضم آنزیمی به کمک آنزیم HindIII دو ژنوتیپ AA و BB که به ترتیب دارای سه قطعه ۳۱۴، ۲۴۷ و ۱۵۷ و دو قطعه ۴۰۰ و ۳۱۴ جفت بازی ایجاد نمود (اشکال ۱ و ۲). عدم رویت افراد هتروزیگوت در جایگاه ژنی GHR احتمالا به این نکته اشاره دارد که وفور آلل B در این گله در حد بسیار پایین بوده و همچنین به دلیل قرار گرفتن این ژن روی کروموزوم جنسی Z فقط در خروس های گله امکان رویت افراد هتروزیگوت وجود داشته که به دلیل تعداد کم خروس های نمونه گیری شده (براساس نسبت ۱ به ۷) این امکان فراهم نشده است، همچنین به دلیل عدم رویت تعداد کافی از ژنوتیپ BB و بسنده نبودن تعداد تکرار، امکان آنالیز آماری برای یافتن رابطه بین داده های فنوتیپی و ارزش های اصلاحی صفات با ژن GHR وجود نداشت.. جایگاه ژنیGH ژنوتیپ +/+ بیشترین تعداد و فراوانی را در گله مورد بررسی نشان داد. فراوانی ژنوتیپی و آللی ژن های GH و GHR در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. در تحقیقی فراوانی ژنوتیپ های ژن GH در مرغان لگهورن سفید به ترتیب برای ژنوتیپ های +/+ ، +/- و -/- برابر ۰/۳۶ ، ۰/۴۴ و ۰/۲ و فراوانی ژنوتیپ های ژن GHR در این نژاد برای ژنوتیپ های AA و BB به ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۴۸ گزارش گردید (۵). همچنین فراوانی ژنوتیپ های ژن GHR در جوجه های نژاد خالص ونچانگ چین به ترتیب برای ژنوتیپ های AA و BB برابر ۰/۹۴ و ۰/۰۶ بود (۱۱). نتایج بررسی های مولکولی و قطعات تشکیل شده روی ژل آگارز بعد از هضم آنزیمی (شکل ۱)، حاکی از این موضوع است که قطعه تکثیر شده ژن GH در مرغان بومی مازندران جدید بوده و تاکنون در نژاد و یا سویه دیگری گزارش نشده است. زیرا قطعه مورد انتظار براساس مقاله مرجع و توالی بانک ژن یک توالی ۱۱۶۸ جفت بازی می باشد ولی در این تحقیق یک قطعه ۱۰۵۰ جفت بازی تکثیر گردید. ضمناً بر اساس توالی آنزیم برش دهنده انتظار ایجاد دو قطعه ۱۴۰ و ۱۰۲۸ جفت بازی بود که دو قطعه ۴۵۰ و ۶۰۰ جفت بازی ایجاد شد. جهت بررسی دقیق تر و احتمالاً گزارش آن، نیاز به تعیین توالی قطعه تکثیر شده در حالت برش نخورده و برش خورده می باشد که در دست انجام است.

آزمون مربع کای برقراری تعادل هاردی- واینبرگ در جایگاه ژنی GH را تایید، اما نشان داد که جایگاه ژنی GHR در این گله در تعادل نمی باشد. نتایج بدست آمده بیانگر آن است که جایگاه GHR احتمالاً تحت تاثیر استراتژی انتخاب قرار گرفته است. میزان هتروزیگوسیتی یکی از شاخص های میزان تنوع ژنتیکی در یک جمعیت به حساب می آید. میزان هتروزیگوسیتی برای جایگاه GH در این گله ۰/۳۲۲۳ بدست آمد که بسته بودن گله احتمالا سبب کاهش سطح هتروزیگوسیتی در این جایگاه شده است (جدول ۳).

ژنوتیپ GH تاثیر معنی داری روی ارزش های فنوتیپی وزن در یک

جدول ۳- فراوانی ژنی و ژنوتیپی در جایگاه های ژنی GH و GHR و هموزایگوسیتی(Ho)، هتروزیگوسیتی(He)، فراوانی مشاهده شده(O) و فراوانی مورد انتظار (e)در جایگاه ژنی GH

X^2	فراوانی ژنوتیپی			فراوانی آللی		جایگاه ژنی
۲/۶۷	-/-	-/+	+/+	-	+	GH
	۰/۰۱۹۵	۰/۳۶۵۱	۰/۶۱۵۴	۰/۲۰۱۹	۰/۷۹۸۱	
۳۱۱	BB	AB	AA	B	A	GHR
	۰/۰۰۶۵	۰	۰/۹۹۳۵	۰/۰۰۶۴	۰/۹۹۳۶	

	Ho (O)	Ho (e)	He (O)	He (e)
GH	۰/۶۳۴۶	۰/۶۷۶۷	۰/۳۶۵۴	۰/۳۲۲۳
GHR	۱	۰/۹۸۷	۰	۰/۰۱۲۷

روزگی، وزن در هشت هفتگی و وزن بدن در سن بلوغ جنسی نداشت اما روی صفت وزن بدن در دوازده هفتگی اثر معنی داری ($P\leq ۰/۰۵$) داشت. اثر ژنوتیپ های حاصل از ژن GH روی ارزش اصلاحی هیچکدام از صفات معنی دار نبود (جدول ۵). مقایسات میانگین نشان داد که افراد دارای ژنوتیپ +/+ اختلاف معنی داری با میانگین افراد دارای ژنوتیپ -/+ نداشته، اما با میانگین افراد دارای ژنوتیپ -/- اختلاف معنی دار دارد، بطوری که افراد دارای ژنوتیپ +/+ نسبت به افراد دارای ژنوتیپ -/- از میانگین بالاتری در صفت وزن بدن در سن دوازده هفتگی برخوردار بوده اند (جدول ۴).

Feng و همکاران (۵) بعد از تعیین چند شکلی ژن GH به روش PBR (روش استفاده شده در این مقاله)، دو آلل، با سه ژنوتیپ به دست آوردند. آنان پس از بررسی آماری ژنوتیپ های حاصل بیان داشتند که وزن در ۱۴۰ روزگی با ژنوتیپ های حاصل رابطه معنی داری نداشت ($P\leq ۰/۸۸$). نزدیک ترین صفت به وزن در ۱۴۰ روزگی در تحقیق حاضر صفت وزن بدن در سن بلوغ جنسی بود که رابطه معنی داری با ژتوتیپ های حاصل از ژن GH نداشت ($P\leq ۰/۱۸$). و Nie و همکاران (۱۴) چند شکلی ژن GH را با صفت وزن بدن در تمام سنین و صفت افزایش وزن روزانه در هفته های یک تا ۴ بررسی و یک رابطه معنی دار بین این صفات و ژنوتیپ های حاصل از ژن GH را گزارش نمودند. در مطالعه حاضر نتایج حاصل از آنالیز واریانس در مورد صفت وزن در یک روزگی نشان داد که اختلاف بین واریانس های کلیه اثرات از جمله ژنوتیپ ها معنی دار نبود (جدول ۴). بطور کلی تحقیقات انجام شده روی ژن GH و GHR همبسته بودن این ژن ها را با صفات تولید تخم نشان می دهد (۵ ، ۹). با توجه به تحقیقات قبلی و وجود رابطه معنی دار بین صفت تعداد روزهای تخم گذاری و ژن GHR، و عملکرد پایین ژنوتیپ هایBB (۱۱)، شاید بتوان یکی از دلایل فروانی کم آلل B را در گله مرغ بومی مازندران تاثیر صفت تعداد روزهای تخم گذاری دانست که به عنوان معیار انتخاب در شاخص انتخاب اعمال شده، که البته این گفته نیازمند نمونه گیری و بررسی بیشتر است. اثر ژن GH روی صفت وزن در هشت هفتگی تمایل برای معنی دار شدن را نشان داد اما معنی دار نبود ($P\leq ۰/۰۷$) اما اثرات جنس و هچ معنی دار ولی اثر مادری معنی دار نبود اثر جایگاه ژنی GH روی صفت وزن در دوازده هفتگی معنی دار بود ($P\leq ۰/۰۳$). اثرات جنس و هچ معنی دار اما اثرات مادری در مورد این صفت نیز معنی دار نبود. اثر ژن GH روی صفت وزن در زمان بلوغ جنسی معنی دار نبوده و از بین مولفه های مدل تنها اثر هچ معنی دار بود. مقایسات میانگین نشان داد افراد دارای ژنوتیپ +/+ دارای میانگین وزن دوازده هفتگی بیشتری در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ -/- بوده اما اختلاف بین افراد دارای ژنوتیپ +/+ و -/- با افراد داری ژنوتیپ +/- معنی دار نبود. نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر نشان می دهد که آلل + در بهبود فرایند رشد در سن دوازده هفتگی در طیور موثر می باشد. با توجه به عملکرد فیزیولوژیکی دو ژن GH و گیرنده آن که در سلول به سمت ایجاد کمپلکس GH-GHR هدایت و به دستگاه گلژی می روند، که این رویداد با الگوهای رها کننده چند بخشی GH، در طول دوره رشد مرتبط می باشد (۱۰).

جدول ۴- نتایج آنالیز واریانس صفات مورد بررسی مربوط ژن GH

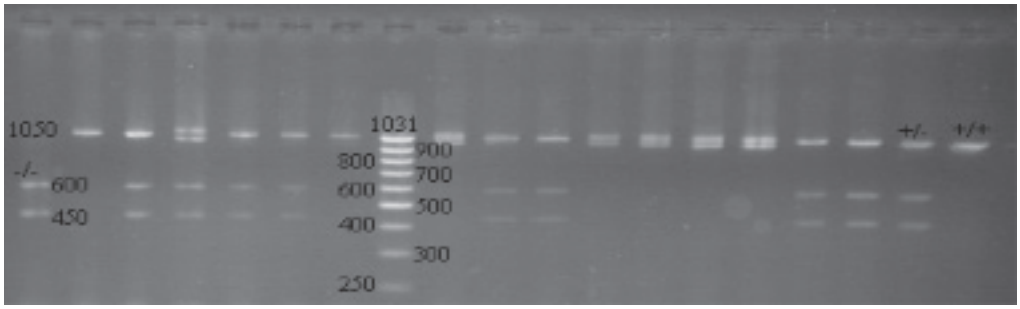
صفات	ارزش ها	PVALUE
وزن بدن در سن یک روزگی	فنوتیپی	۰/۴۰
	اصلاحی	۰/۵۱
وزن بدن در سن هشت هفتگی	فنوتیپی	۰/۰۷
	اصلاحی	۰/۷۵
وزن بدن در سن دوازده هفتگی	فنوتیپی	۰/۰۳ *
	اصلاحی	۰/۲۹
وزن بدن در زمان بلوغ	فنوتیپی	۰/۲۶
	اصلاحی	۰/۴۸

*= معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵

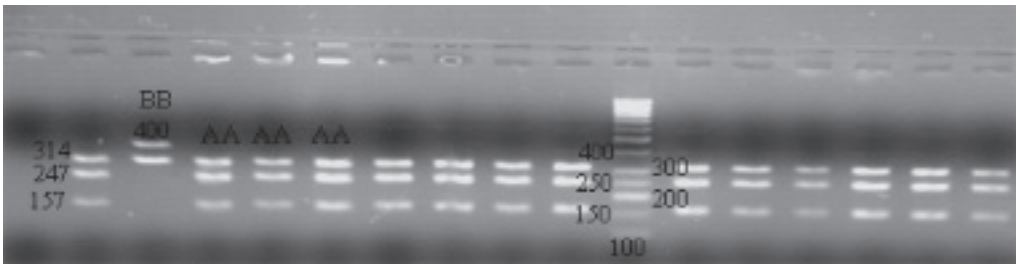
جدول ۵- مقایسات میانگین ژنوتیپ های مختلف ژن GH در ارتباط با صفت BW۱۲

ژنوتیپ	میانگین وزن بدن در دوازده هفتگی
+/+	۹۴۹±۱۶/۷ a
-/+	۹۰۵±۱۹/۷ ab
-/-	۸۰۰±۷۶/۹ b

حروف متفاوت اختلاف میانگین ها در سطح احتمال ۰/۰۵ را نشان می دهد



شکل ۱- تعیین ژنوتیپ براساس الگوی قطعات هضم شده ژن GH در مرغان بومی مازندران (اعداد روی شکل نشان دهنده تعداد جفت باز در هر قطعه برش خورده از DNA می باشندو ژنوتیپ ها به صورت +/+، -/+ و -/- در شکل نشان داده شده است)



شکل ۲- تعیین ژنوتیپ براساس الگوی قطعات هضم شده ژن GHR در مرغان بومی مازندران (اعداد روی شکل نشان دهنده تعداد جفت باز در هر قطعه برش خورده از DNA می باشند و ژنوتیپ ها به صورت AA و BB در شکل نشان داده شده است)

سپاسگزاری

۱- از آقای مهندس روحی مسئول محترم آزمایشگاه ژنتیک دام دانشگاه کشاورزی ساری، آقای مهندس کوهی مسئول محترم مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران و آقای مهندس بنیامین دلیر صفت مسئول محترم آزمایشگاه ژنتیک و بیوتکنولوژی دانشکده پردیس صومعه سرا به پاس زحماتشان تشکر و قدردانی می شود.

۲- از سازمان جهاد کشاورزی استان مازندران به منظور در اختیار قرار دادن امکانات و رکورد ها تشکر و قدردانی می شود.

منابع مورد استفاده

1- Agrawal, S. K., Cogburn, L. A.,and Burnside, J. (1994) Dysfunctional growth hormone receptor in a strain of sex-linked dwarf chicken: evidence for a mutation in the intracellular domain, *J. Endocrinol*, 142:427-34.

2- Bitgood, J. J., and Somes, Jr, R. G. (1993) *Gene map of the chickens (Gallus gallus).* In: 'Genetic maps' 6th edition, S. O' Brien (Ed.), 4.333-4.342. Cold spring harbor laboratory press.

3- Byrne, C.R., Wilson, B.W. and Ward, K.A. (1987) The isolation and characterization of the ovine growth hormone gene. Aust.. J. Bio. Sci., 40: 459-68.

4- Dunn, I.C., Miao, Y.W. Morris, A. Romanov, M.N. Wilson, P.W. and Waddington, D. (2004) A study of association between genetic markers in candidate genes and reproductive traits in one generation of a commercial broiler breeder hen population, *Heredity*, 92: 128-34.

5- Feng, X.P., Kuhenlin, U. Aggrey, S.E. Gavora, J.S. and adworny.D.Z. (1997) Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor Gene in a white leghorn strain, *Poultry Science*,76:1770-1775.

6- Harrvy, S., Scanes, C.G. Chadwick, A. and Bolton, N.J. (1978) *Influence of fasting, glucose and insulin on the levels of growth hormone and prolactine in the plasma of the domestic fowl (Gallus domesticus). J. Endicrinol, 78:501-506.*

7- Harrvy, S., Scanes, C.G. and Godden, P.M.M. (1979) Plasma growth hormone levels in normal and testestrone implanted growing turkeys. *Poult. Sci*., 58: 745.

8- Hull, K.L., and Harvy, S. (1999) Growth hormone resistance: cilinical states and animal models, *Endocrinol*., 163: 165-72.

9- Kansaku, N., Nakada, A. Okabayashi, H. Guemene, D. and Kuhnlein, U. (2003) DNA polymorphism in the chicken growth hormone gene: Association with egg production. *Animal science Journal*. 74:243-244.

10- Kuhn, E. R., Vleurick, L. Edery, M. Decuypere, E. and Darras, V. M. (2002) Internalization of the chicken growth hormone receptor complex and its effect on biological functions. *Elsevier Science*. 132: 299-308.

11- Li, H., Zhu, W. Chen, K. Wu, X. Tang, Q. and Gao, Y. (2008) Association between GHR and IGF-1 gene polymorphisms, and reproductive traits in wenchang chickens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 32: 281-285.

12- Madeja, Z., Adamowicz, T. Chmurzynska, A. Jankowski, T. Melonek, J. Switonski M. and Strabel, T. (2004) Effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. *J. Dairy Sci*., 87: 3925-3927.

13- Meyer, K. (2000) *DF REML version 3.0 program to estimate variance components by restricted maximum likelihood using* derivative-free algorithm. Users note Animal genetics and breeding unit. University New England, Armidable, NSW, Australia, pp: 84.

14- Nie, Q., Sun, B. Zhang, D. Luo, C. Ishage, N. A. Lei, M. (2005) High diversity of chicken growth hormone gene and effects on growth and carcass traits. *J. Heredity*, 96: 698-703.

15- SAS Institute Inc. (2006) *SAS/STAT. Users guide*. Version 9.1.

16- Somes, R. G. Jr. (1984) International registry of poultry genetic stock. Bulletin 469, the university of Connecticut, *Storrs*, 95 p.

17- Tixer, M. (2002) From phenotype to genotype: Major genes in chickens. *World's Poultry Science Association*. 58:35-45.

18- Yeh, F.C., Yang. R. (1999) *POPGEN Version* 1.31program to Population genetic analysis. Quick user guide. University Alberta, Center for International Forestry Research. pp: 28.